Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 14, No. 3, Fall 2022, p. 439-446

Evaluation of BMP2 Gene Exon 1 Polymorphism and its Effect on Weight of Tail in Fat-tailed Lori Bakhtiari Sheep

Ali Forouharmehr[1]*, Majid Khaldari[1]

Received: 07-10-2021
Revised: 27-10-2021
Accepted: 14-11-2021
Available Online: 13-11-2022

How to cite this article:
Forouharmehr, A., & Khaldari, M. (2022). Evaluation of BMP2 gene exon 1 polymorphism and its effect on weight of tail in fat-tailed Lori Bakhtiari Sheep. *Iranian Journal of Animal Science Research, 14*(3), 439-446
DOI: 10.22067/ijasr.2021.72931.1043

Introduction: Having a fat tail is a characteristic of some Iranian native sheep breeds, whose main role is usually to store energy for using in limited food conditions. However, the amount of energy required to store fat in this tissue directly affects the efficiency of meat production and carcass quality. In Iran, the average weight of each carcass is about 15.3 kg, of which 15% is the fat tail. It requires 1.7 kg more feed per kilogram of fat tail than meat (protein), and customers pay a lower price per unit of weight for sheep with heavier fat tail. Today, researchers in the field of animal breeding have a special focus on reducing the weight of the fat tail and increasing the marketability of sheep carcasses. Bone morphogenetic protein 2 (BMP2) belongs to the β-metamorphic growth factor of the β family and plays an important role in bone and cartilage development and, therefore, seems to be the best candidate for the fat-tailed phenotype. Comparison of the results of genotype obtained from Ovine SNP50K Bead Chip in tow fat-tailed breeds with the results obtained in 13 thin tail breeds showed a missense mutation in BMP2 gene, with the frequency of different alleles in these two different groups.

Materials and Methods: In this study, in order to detect the polymorphism in BMP2 gene exon 1 and investigation of its relationship with tail fat trait, blood samples from 150 same age ewes of Lori Bakhtiari breed were randomly taken which are maintained in Gahar Dorud sheep breeding center (Dorud, Lorestan). DNA extraction was performed using a special DNA extraction kit (Pars Toos, Iran) according to the manufacturer's instructions. Determination of quality and quantity of extracted DNA was performed using agarose gel electrophoresis and nanodrop spectrophotometer, respectively. BMP2 gene exon 1 was amplified successfully by a pair of specific primer. The accuracy of this process was confirmed by 1.5% agarose gel. Then, using PCR-SSCP technique, 12% polyacrylamide gel and silver nitrate staining, probable polymorphisms were tracked in this position and finally calculation of Chi-square test ($\chi 2$) for deviation from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) has been assessed by Popgen (Ver. 1.32) software. The relationship between genotypes and average fat tail weight (Corrected by body weight (BW)) has been analyzed with the PROC GLM procedures in Statistical Analysis System (SAS) v. 9.1 version.

Results and Discussion: Based on the results, amplification of BMP2 gene exon 1 was successfully done and three different patterns of polymorphism have been detected through SSCP analysis. Exon 1 of BMP2 gene in Lori Bakhtiari ewes containing A and B alleles with distributions of 197 and 103 and frequency of 65.7% and 34.33%, respectively, that have generated AA, AB and BB genotypes with distribution of 75, 47 and 28 and frequencies of 50%, 31.33% and 18.67%, respectively. Mean comparison of fat tail weight in each genotype using Duncan procedure showed that the effect of genotype on fat tail weight in Lori Bakhtiari breed was significant ($P < 0.05$). AA genotype with average fat tail weight of 5.16 showed higher performance than AB genotype with average fat tail weight of 4.29 and BB genotype with average fat tail weight of 3.76. The results of statistical analysis also showed that the presence of allele A causes heavier fat tail weight and the presence of B allele causes lower fat tail weight ($P < 0.05$). Heterozygosity and Homozygosity observed in this study are 0.3154 and 0.6846, respectively. The significance of the calculated chi-square genotypic frequency in each population at the level of 0.05 in comparison with the chi-square table shows that the studied populations are not

1- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran
* Corresponding Author Email: forouharmehr.a@lu.ac.ir

in Hardy-Weinberg equilibrium. Which can be attributed to the pressure of selecting on reference population for genetic breeding for fat tail weight at Gahar Dorud sheep breeding center. Today, advances in genomic technologies have multiplied, and if information on loci associated with meat quality traits can be obtained and the genes that control these traits are located on chromosomal sites, they can be incorporated into breeding programs. Breeds should be used with MAS and cause genetic growth and development of these traits.

Conclusion: Using molecular detection methods and identifying sheep carrying B alleles and selecting them as the parents of the next generation, we can move towards producing herds with lower fat tail weight and more marketability.

Keyword: BMP2, Fat tail, Lori Bakhtiari sheep, PCR-SSCP, Polymorphism.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

بررسی چند شکلی اگزون یک ژن BMP2 و تأثیر آن بر وزن دنبه در گوسفندان دنبه‌دار نژاد لری بختیاری

علی فروهرمهر[1*]، مجید خالداری[1]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۱۵
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۸/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۲۳

فروهرمهر، ع. و خالداری، م. (۱۴۰۱). بررسی چند شکلی اگزون یک ژن BMP2 و تأثیر آن بر وزن دنبه در گوسفندان دنبه‌دار نژاد لری بختیاری. *پژوهش‌های علوم دامی ایران*، ۱۴(۳)، ۴۴۶-۴۳۹.

چکیده

وزن دنبه از جمله عوامل تأثیرگذار بر کیفیت لاشه در گوسفندان است. امروزه پژوهشگران در حوزه اصلاح نژاد دام تمرکز ویژه‌ای بر کم کردن وزن دنبه و افزایش بازارپسندی لاشه گوسفند دارند. در این مطالعه، با هدف بررسی وقوع چند شکلی در اگزون یک ژن BMP2 و ارتباط آن با صفت چربی دنبه، ابتدا از ۱۵۰ رأس میش نژاد لری بختیاری خون‌گیری شد و پس انجام فرایند استخراج DNA، اگزون یک ژن BMP2 توسط یک جفت آغازگر اختصاصی تکثیر شد. سپس با استفاده از تکنیک PCR-SSCP چند شکلی در این جایگاه ردیابی و در نهایت، داده‌های به‌دست آمده توسط نرم‌افزارهای Popgene و SAS ارزیابی شدند. بر اساس نتایج به‌دست آمده، اگزون یک ژن BMP2 حاوی دو آلل A و B به‌ترتیب با توزیع ۱۹۷ و ۱۰۳ و فراوانی ۶۵/۷ درصد و ۳۴/۳۳ درصد بود که سه ژنوتیپ AA، AB و BB به‌ترتیب با توزیع ۷۵، ۴۷ و ۲۸ درون جمعیت به‌ترتیب فراوانی‌های ۵۰ درصد، ۳۱/۳۳ درصد و ۱۸/۶۷ درصد را به‌وجود آوردند. مقایسه میانگین وزن دنبه در هر یک از ژنوتیپ‌ها با استفاده از رویه دانکن نشان داد که اثر ژنوتیپ بر وزن دنبه در نژاد لری بختیاری در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار است. ژنوتیپ AA میانگین وزن دنبه ۵/۱۶، ژنوتیپ AB میانگین وزن دنبه ۴/۲۹ و ژنوتیپ BB میانگین وزن دنبه ۳/۷۶ را نشان دادند. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که می‌توان با استفاده از روش‌های تشخیص مولکولی و شناسایی گوسفندان حامل آلل‌های B و انتخاب آن‌ها به‌عنوان والدین نسل بعد می‌توان گله‌هایی با وزن دنبه کمتر و بازارپسندی بیشتر ایجاد نمود.

واژه‌های کلیدی: چربی دنبه، چند شکلی، گوسفند لری بختیاری، BMP2، PCR-SSCP.

مقدمه

امروزه در میان تولیدات عمده‌ای که در بخش کشاورزی وجود دارد، محصولات مرتبط با گوسفند اعم از گوشت، پشم و شیر اهمیت به‌سزایی دارند. از طرفی، در بازار کشورهای آسیای میانه و شرق و غرب آفریقا تقاضای زیادی برای گوسفند زنده به‌عنوان گوشت تازه وجود دارد. مصرف‌کنندگان نیز معمولاً لاشه با چربی کمتر را می‌پسندند. بنابراین، مجموع این عوامل پرورش‌دهندگان را به‌سمت پرورش گله‌هایی با میزان گوشت بیشتر و چربی کمتر سوق می‌دهند (Khaldari and Kalfari, 2014; Wood *et al.*, 2008). تاکنون آزمایش‌های مختلفی با هدف کاهش چربی دنبه در گوسفند انجام شده است که از آن جمله می‌توان به انواع آمیزش‌ها با نژادهای دم‌دار خارجی، قطع دنبه پس از تولد دام‌ها، کاهش طول دوره پرورش و استفاده از آنتی‌بیوتیک اشاره نمود. برآیند تحقیقات مذکور ثابت کرده است که در عمل هیچ یک از این روش‌ها مفید نبوده‌اند (Khaldari *et al.*, 2007)

در حال حاضر، جمعیت گوسفند و بره کشور حدود ۵۳ میلیون رأس است که سالانه حدود ۱۱ میلیون رأس آن کشتار می‌شود. میانگین وزن لاشه هر رأس حدود ۱۵/۳ کیلوگرم است که ۱۵ درصد

۱- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران.
(*- نویسنده مسئول: (Email: forouharmehr.a@lu.ac.ir
DOI: 10.22067/ijasr.2021.72931.1043

این مقدار را دنبه تشکیل می‌دهد، به عبارت دیگر، سالانه ۲۵۲۴۵ تن دنبه تولید می‌شود (Khaldari and Kalfari, 2014). دنبه از یک طرف بر سلامت مصرف‌کننده اثر دارد که سبب ایجاد بیماری‌های قلبی- عروقی می‌شود و از طرف دیگر، با منافع ملی و اقتصاد تولیدکننده در تضاد است، زیرا هر کیلوگرم دنبه نسبت به گوشت (پروتئین) به ۱/۷ کیلوگرم خوراک دام بیشتری نیاز دارد و نهایتاً برای گوسفندان با دنبه بیشتر قیمت کمتری به‌ازای هر واحد وزن پرداخت می‌شود. در حال حاضر، بیشتر تلاش‌ها روی راندمان تبدیل غذایی برای کاهش چربی متمرکز است که در این راستا باید پایین آوردن قیمت تمام شده، بالا رفتن راندمان تولید، دفع ضایعات نیتروژنی کمتر به محیط زیست و کاهش فشار چرا بر مراتع نیز مدنظر قرار گیرد(Cockett, et al., 2005) با توجه به نتایج گزارش شده توسط مرادی و همکاران (۱۳۹۰) در گوسفندان نژاد لری بختیاری و زل و در مجموع سه منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های ۷، ۵ و X مرتبط با ذخیره چربی شناسایی شده است که دو منطقه ژنومی در کروموزوم‌های ۵ و X بیانگر انتخاب در جهت افزایش فراوانی جهش‌های مؤثر بر اندازه دنبه طی هزاران سال پس از اهلی شدن این حیوانات است. آن‌ها در تحقیق خود مشخص کردند، احتمال اینکه ژن‌های مؤثر بر وزن دنبه و چربی بدن در نژادهای دنبه‌دار در مناطق ذکر شده باشند، بسیار زیاد است(Moradi *et al.*, 2012)شناسایی مناطق ژنومی که هدف انتخاب صفات فنوتیپی بوده‌اند، یکی از چالش برانگیزترین کاربردهای استفاده از صفحات حاوی نشانگر متراکم مانند chip array در ژنتیک حیوانی است. در مطالعه Moioli و همکارانش در سال ۲۰۱۵، اسکن ژنومی گسترده‌ای[1] با استفاده از حدود ۵۰۰۰۰ SNP[2] به‌منظور شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با رسوب چربی در گوسفندان انجام شد. نتایج ژنوتایپینگ به‌دست آمده با Ovine SNP50K BeadChip در دو نژاد دنبه‌دار با نتایج به‌دست آمده در ۱۳ نژاد بدون دنبه مقایسه شد. توالی‌یابی مستقیم ژن‌های موجود BeadChip، فراوانی آللی متضادی را در گوسفندان بدون دنبه در مقایسه با گوسفند دنبه‌دار نشان داد و SNPهای مهم بیشتری را ارائه داد، برای تأیید بیشتر نتایج اسکن ژنومی گسترده،SNPهای درون این ژن‌ها در دو گروه گوسفند ژنوتایپ شدند و جهش missense در ژن BMP2، با فراوانی آلل متفاوت در دو گروه، تشخیص داده شد. در نهایت، نتایج نشان داد که BMP2 و VNRT به‌عنوان محتمل‌ترین ژن‌های درگیر در فنوتیپ گوسفندان دنبه‌دار است (Moioli, et al., 2015) هدف از این مطالعه، بررسی احتمال وقوع چند شکلی در اگزون یک ژن BMP2 در گوسفندان لری بختیاری با استفاده از روش PCR-SSCP و بررسی اثر آن روی وزن دنبه این گوسفندان با استفاده از آنالیزهای مقایسه میانگین است.

1- Genomewide scan
2- Single Nucleotide Polymorphism

مواد و روش‌ها

خونگیری و جمع‌آوری داده‌ها

برای اجرای این پژوهش از ۱۵۰ رأس میش هم سن از نژاد لری بختیاری واقع در مرکز اصلاح نژاد گوسفند و بز گهر دورود (شهرستان دورود، استان لرستان) استفاده شد. خون‌گیری به‌صورت تصادفی از ورید گردنی و در لوله‌های حاوی EDTA (۱ تا ۱/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) انجام شد و سریعاً به فریزر ۲۰- برای ذخیره‌سازی منتقل شدند. سپس استخراج DNA از نمونه‌های خون با استفاده از کیت اختصاصی استخراج DNA (پارس توس، ایران) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. همچنین بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده به‌ترتیب با استفاده از روش‌های الکتروفورز روی ژل آگارز و طیف‌سنجی انجام گرفت. رکوردهای مربوط به وزن دنبه و وزن بدن گوسفندان نمونه‌برداری شده نیز از مرکز اصلاح نژاد گوسفند و بز گهر دورود تهیه شد.

شرایط واکنش زنجیره پلی‌مراز

در این مطالعه، تکثیر اگزون یک ژن BMP2 به‌طول ۴۳۲ جفت باز با استفاده از واکنش زنجیره پلی‌مراز انجام شد. آغازگرهای استفاده شده در این واکنش شامل آغازگر اختصاصی رفت با توالی، -'5 ACTAATGTCGGCCCTGTCC -'3 و آغازگر برگشت با توالی -'5 CTTTGCCGTACGACTCCC -'3 بود. طراحی پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار Primer Premier 6.2 و توالی ژن BMP2 با شماره دسترسی XM_004014353 که از پایگاه داده‌های NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov) استخراج شده بود، صورت گرفت. هر واکنش تکثیر در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱ میکرولیتر DNA (۵۰-۱۰۰ نانوگرم در هر میکرولیتر)، ۱/۵ میکرولیتر $MgCl_2$، ۰/۵ میکرولیتر از هر یک از آغازگرها (۱۰ پیکومول)، ۲ میکرولیتر dNTPs(۲/۵ میلی مولار)، ۱ واحد آنزیم Taq DNA polymerase و ۲/۵ میکرولیتر از بافر PCR با غلظت X ۱۰ انجام شد. برنامه تکثیر شامل، یک چرخه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت پنج دقیقه برای واسرشته شدن اولیه دو رشته DNA و ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه برای واسرشته شدن دو رشته DNA، دمای ۵۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه برای اتصال آغازگرها و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه برای تکثیر قطعه مورد نظر بود. همچنین یک چرخه ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت پنج دقیقه برای بسط نهایی در نظر گرفته شد. در نهایت، صحت تکثیر محصولات PCR توسط ژل آگارز ۱/۵ درصد و با استفاده از دستگاه مستندسازی

ژل، (بایورد، آمریکا) ارزیابی شد.

شرایط فرایند چند شکلی ساختار تک‌رشته‌ای (SSCP)

برای شناسایی آلل‌های مختلف در اگزون یک ژن BMP2 (از نظر بروز جهش، حذف یا اضافه شدند نوکلئوتیدی در ترادف اسیدهای نوکلئیک) از آنالیز SSCP استفاده شد. در آنالیز SSCP، دو میکرولیتر از هر یک از محصولات PCR به‌دست آمده با هشت میکرولیتر بافر بارگذاری SSCP (فرمامید ۹۸ درصد، EDTA ۱۰ میلی مولار، بروموفنول آبی ۰۲۵/ درصد۰، زایلن-سیانول ۰/۰۲۵ درصد) مخلوط و در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه واسرشت سازی شدند (Nazifi *et al*., 2015). سپس نمونه‌ها روی ژل پلی اکریل آمید ۱۲ درصد در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به‌مدت پنج ساعت، با ولتاژ ثابت ۴۰۰ ولت و با استفاده از بافر TBE 1X الکتروفورز شدند. رؤیت‌سازی باندها با استفاده از رنگ‌آمیزی نیترات نقره انجام شد (Steinfeld *et al*., 2006). و در ادامه ژنوتیپ نمونه‌ها با مشاهده مستقیم تعیین شد.

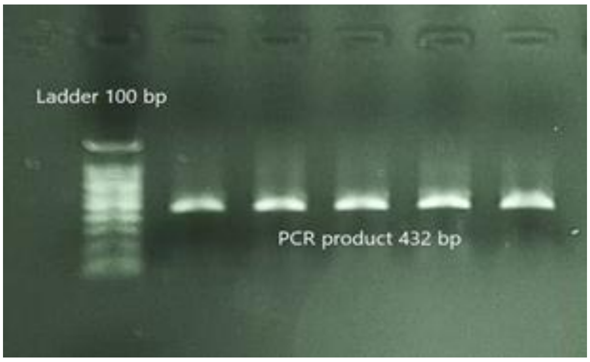
آنالیز آماری

توزیع آللی و ژنوتیپی با شمارش مستقیم آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها از روی ژل اکریل آمید و فراوانی آللی و ژنوتیپی و میزان هتروزیگوسیتی و کای دو توسط نرم‌افزار Popgene محاسبه شد. بررسی اثر ژنوتیپ‌های مختلف در جایگاه ژنی مورد مطالعه بر صفت وزن دنبه با کمک آنالیز مقایسه میانگین و رویه آزمون دانکن توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد.

نتایج و بحث

تکثیر اگزون یک ژن BMP2

اگزون یک ژن BMP2 با موفقیت توسط واکنش PCR تکثیر شد و همان‌طور که در شکل ۱ ملاحظه می‌شود، هیچ‌گونه باند غیراختصاصی و یا آلودگی در طی فرایند تکثیر دیده نمی‌شود. سپس نمونه‌های تکثیر شده برای بررسی وقوع و یا عدم وقوع چند شکلی در طی فرایند SSCP مورد ارزیابی قرار گرفتند.



شکل ۱– محصولات PCR به‌دست آمده از تکثیر اگزون یک ژن BMP2 که با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد رؤیت‌سازی شد

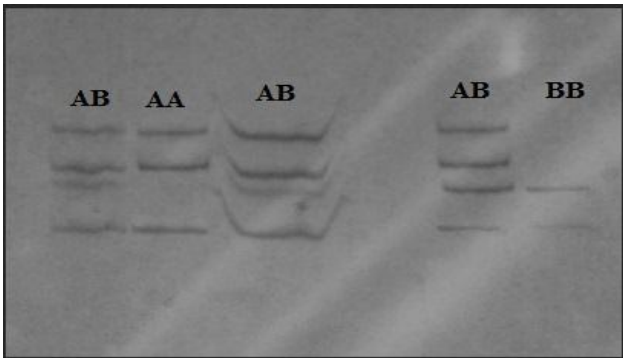
Figure 1- PCR products of BMP2 gene exon 1 visualized on 1.5% agarose gel

بررسی چند شکلی در اگزون یک ژن BMP2 با استفاده از تکنیک SSCP

چند شکلی محصولات حاصل از تکثیر اگزون یک ژن BMP2 به‌کمک تکنیک SSCP و ژل اکریل آمید ۱۲ درصد و رنگ‌آمیزی نیترات نقره مورد ارزیابی قرار گرفتند. همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، فرایند SSCP وقوع پدیده پلی‌مورفیسم را در توالی ژن مورد نظر تائید می‌کند، سه نوع ژنوتیپ AB،BB و AA تائید بر وجود چند شکلی در این ناحیه است.

تعیین وفور آللی و ژنوتیپی اگزون یک ژن BMP2 در نژاد لری بختیاری

مقایسه وفور آللی و ژنوتیپی اگزون یک ژن BMP2 در میش‌های یک ساله نژاد لری بختیاری در جدول ۱ گزارش شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، هر یک از ژنوتیپ‌های AA، AB و BB به‌ترتیب دارای توزیع ۷۵، ۴۷ و ۲۸ درون جمعیت مورد مطالعه و همچنین به‌ترتیب دارای فراوانی ۵۰ درصد، ۳۱/۳۳ درصد و ۱۸/۶۷ درصد می‌باشند. توزیع هر یک از آلل‌های A و B به‌ترتیب ۱۹۷ و ۱۰۳ است که به‌ترتیب هر یک دارای فراوانی ۶۵/۷ درصد و ۳۴/۳۳ درصد می‌باشند. هتروزیگوسیتی و هموزیگوسیتی مشاهده شده در این مطالعه به‌ترتیب ۰/۳۱۵۴ و ۰/۶۸۴۶ است.



شکل ۲- ردیابی چند شکلی در اگزون یک ژن BMP2 با کمک تکنیک SSCP

Figure 2- Polymorphism detection in exon 1 of BMP2 gene using SSCP technique

جدول ۱- مقایسه وفور آللی و ژنوتیپی اگزون یک ژن BMP2

Table 1- Comparison of allelic and genotypic abundance of BMP2 gene exon 1

تعداد نمونه Number of sample	توزیع ژنوتیپی Genotype distribution			فراوانی ژنوتیپی (٪) Genotype frequency			توزیع آللی Allele distribution		فراوانی آللی (٪) Allele frequency		کای دو Chi-square test (%2)
	AA	AB	BB	AA	AB	BB	A	B	A	B	
150	**75**	**47**	**28**	**50**	**31.33**	**18.67**	**197**	**103**	**65.7**	**34.3**	**13.97 ns**

بی معنی

n.s: No Significant

معنی‌دار نبودن کای دو محاسبه شده (۱۳/۹۷) برای فراوانی‌های ژنوتیپی و مقایسه با کای دو جدول نشان می‌دهد که جمعیت مورد مطالعه در تعادل هاردی واینبرگ نمی‌باشند که می‌توان دلیل آن را کوچک بودن جمعیت مورد مطالعه و همچنین تحت فشار انتخاب بودن جمعیت مبدأ برای اصلاح ژنتیکی برای صفت وزن دنبه در مرکز اصلاح نژاد گوسفند گهر دورود دانست.

آنالیز اثر ژنوتیپ‌های اگزون یک ژن BMP2 بر صفت وزن دنبه

نتایج آنالیز آماری نشان داد که اثر ژنوتیپ بر وزن دنبه در نژاد لری بختیاری در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار است. به‌طوری‌که ژنوتیپ AA با میانگین وزن دنبه۵/۱۶ عملکرد بیشتری در افزایش وزن دنبه نسبت به ژنوتیپ AB با میانگین وزن دنبه ۴/۲۹ و ژنوتیپ BB با میانگین وزن دنبه ۳/۷۶ را نشان داد. کمترین وزن دنبه مربوط به ژنوتیپ BB بود. مقایسه میانگین صفت وزن دنبه در هر یک از ژنوتیپ‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است.

کیفیت گوشت و ترکیب لاشه از مهم‌ترین صفات اقتصادی در گوسفند به‌شمار می‌روند. چربی بدن و دنبه از جمله عوامل تأثیرگذار بر کیفیت لاشه و گوشت تولیدی در هر نژاد بوده و وقوع جهش در توالی ژن‌های کنترل‌کننده این صفات می‌تواند عملکرد حیوان و بالطبع ارزش ارثی را تحت تأثیر قرار دهد.

جدول ۲- آنالیز اثر ژنوتیپ بر صفت وزن دنبه در نژاد گوسفند لری بختیاری

Table 2- Analysis of genotype effect on fat tail weight in Lori Bakhtiari sheep breed

نژاد Breed	ژنوتیپ Genotype	تعداد نمونه Number of sample	میانگین Mean	خطای استاندارد Standard error	P-value
لری بختیاری Lori Bakhtiari	AA	75	5.16 ^{a}	0.13	< 0.05
	AB	47	4.29 ^{b}	0.17	
	BB	28	3.79 ^{b}	0.22	

^{a,b} میانگین‌های که در هر ستون با حروف مشترک نشان داده شده‌اند، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند (P < ۰/۰۵).

^{a,b} The means in the same column with at least one common letter, do not have significant difference (P<0.05).

در طی دهه اخیر به‌دلیل توسعه روزافزون شهرها و رشد اقتصادی و کشاورزی در همه مناطق و از طرفی، تغییر الگوی مصرفی، میزان تقاضا برای محصولات پروتئینی در حال افزایش است. بخش اعظم این افزایش در کشورهایی است که از رشد اقتصادی سریع (کشورهای

آسیای شرق) برخوردار بوده اند. (Koopaei and Koshkoiyeh, 2011)از آن جا که زمین‌های زراعی و مراتع را نمی‌توان بیش از این وسعت داد، امّا می‌توان میزان تولید در هر واحد سطح را هم در زمینه پرورش دام و هم در زمینه تولید محصولات کشاورزی با به‌کارگیری روش‌های علمی و صحیح افزایش داد. از جمله علوم مهمی که در این زمینه به‌کمک بشر آمده است، علم اصلاح نژاد است. کیفیت گوشت یکی از مهم‌ترین صفات اقتصادی در حیوانات مزرعه‌ای است و چون این صفت، یک صفت ترکیبی محسوب می‌شود، لذا به نظر می‌رسد به‌وسیله تعداد زیادی ژن کنترل می‌شود (Gao, et al, 2007) در دهه گذشته پیشرفت در فناوری‌های ژنومیکی به‌دلیل استفاده از نقشه‌یابی لینکاژی و توالی‌یابی چند برابر شده است و چنانچه بتوان اطلاعات جایگاه‌های مرتبط با صفات کیفیت گوشت را به‌دست آورد و همچنین مشخص شود که ژن‌های کنترل‌کننده این صفات روی چه نواحی کروموزومی واقع هستند، می‌توانند در برنامه‌های اصلاح نژادی با استفاده از MAS[1] مورد استفاده قرار گیرند و باعث رشد و پیشرفت ژنتیکی در این صفات شوند (Ermias *et al*., 2002) امروزه با تغییر مفاهیم مصرف در جامعه، از ضرورت و مطلوبیت چربی کاسته شده است. علاوه‌براین، رسوبات چربی در ناحیه دم می‌تواند ذخایر سایر قسمت‌های بدن را نیز کاهش دهد که به نوبه خود بر کیفیت گوشت گوسفند تأثیر می‌گذارد (Khaldari and Kalfari, 2014). تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان گوشت گوسفند بر این باورند که کیفیت لاشه را می‌توان با کم کردن چربی در بخش دم گوسفند بهبود بخشید بنابراین، بررسی مکانیسم‌های تنظیم مولکولی رسوب چربی در دم گوسفند برای صنعت تولید گوشت از ارزش بالایی برخوردار است. در سال ۱۳۹۵ محققین وجود چند شکلی در ۲۷ ناحیه ژنومی منتخب برای صفات چربی و وزن دنبه که روی کروموزوم‌های شماره ۵، ۷ و X گوسفند بودند را مورد بررسی قرار داند. نمونه‌های خون به‌طور تصادفی از ۳۰۰ رأس گوسفند نژاد لری بختیاری و ۱۰۰ رأس گوسفند نژاد زل جمع‌آوری شد. در هشت مورد از جایگاه‌های مورد بررسی در مطالعه مذکور چند شکلی مشاهده شد و در اکثر این جایگاه‌های چند شکل الگوهای مختلف باندی به‌طور معنی‌داری با ویژگی‌های دنبه در ارتباط بودند ($P < ۰/۰۵$) (Lu *et al*., 2018). پروتئین مورفوژنتیک استخوان ۲ (BMP2) متعلق به فاکتور رشد دگرگونی خانواده β است. این پروتئین فعالیت بیولوژیکی گسترده‌ای دارد و نقش مهمی در فرآیند رشد ماهیچه‌های اسکلتی، تمایز استخوانی و تمایز چـربی دارد (Medela *et al*., 2019; Guiu- Jurado *et al*., Blázquez 2016)

ژن BMP2 در بافت‌های چربی انسان بیان می‌شود و بالاترین سطح بیان را در افراد چاق دارد (Zhang, *et al*., 2019) ژن BMP2نقش مهمی در توسعه استخوان و غضروف نیز ایفا می‌کند بنابراین، به نظر می‌رسد که بهترین کاندید برای بررسی فنوتیپ دم چربی‌دار است. محققین در سال ۲۰۱۹ با بررسی چند شکلی ژن BMP2 از طریق توالی یابی در گوسفند دم کوتاه هان[2] گزارش کردند که چند شکلی تک نوکلئوتیدی که شامل g.48462350C > T در ژن BMP2 است ارتباط معنی‌داری را با صفت نرخ زایش در شکم زایش‌های یک، دو و سه در ۳۸۴ گوسفند دم کوتاه نشان داده است ($P < ۰/۰۵$). زیرا از نظر تولید مثلی، گوسفندان با دم کوتاه برای پرورش و بهبود میزان آبستنی میش‌ها مناسب‌تر هستند. هایپرتروفی دم مانع از جفت‌گیری طبیعی می‌شود و برای کمک به پرورش نیاز به نیروی کار اضافی دارد (Ibrahimi, 2021). در مطالعه‌ای دیگری چند شکلی در اگزون دو ژن BMP2 توسط تکنیک PCR-SSCP و ارتباط آن با برخی از صفات باروری مانند نرخ لقاح میش، تعداد بره زایی میش، نرخ برەزایی میش، نرخ دوقلوزایی میش، تعداد کل بره‌های متولد شده در هر میش، وزن کل بره‌های متولد شده در هر میش، تعداد کل بره‌های از شیر گرفته‌شده در هر میش، وزن کل بره‌های شیر گرفته در هر میش و توانایی پرورش میش برای ۲۹۶ رأس میش برکی[3] بررسی شد. نتایج دو الگوی باندی متفاوت (A1 و A2) در ژن BMP2 را نشان داد که حاوی یک تفاوت در توالی نوکلئوتیدی بود (c.962A > T). همچنین تجزیه و تحلیل ارتباط بین این چند شکلی و تعداد کل بره‌های از شیر گرفته شده در هر میش و وزن کل بره‌های شیر گرفته در هر میش از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). در پژوهش حاضر برای اولین بار احتمال وقوع چند شکلی در اگزون یک ژن BMP2 در گوسفندان نژاد دنبه‌دار لری بختیاری مورد بررسی قرار گرفت و با توجه به اطلاعات به‌دست آمده در بخش نتایج، بررسی چند شکلی در اگزون یک ژن BMP2 در گوسفندان نژاد دنبه‌دار لری بختیاری توسط تکنیک SSCP، پلی مورف بودن این جایگاه ژنی را اثبات کرد و نتایج آنالیز آماری نیز نشان داد که حضور آلل A سبب سنگین‌تر شدن وزن دنبه و حضور آلل B سبب کمتر شدن وزن دنبه می‌شود ($P < ۰/۰۵$). بنابراین با به‌کارگیری روش‌های تشخیص مولکولی و شناسایی گوسفندان حامل آلل‌های B و انتخاب آن‌ها به‌عنوان والدین نسل بعد می‌توان گله‌هایی با وزن دنبه کمتر و بازارپسندی بیشتر ایجاد نمود.

1- Marker-assisted selection

2- Small Tail Han sheep

3- Barki ewes

References

1. Blázquez‐Medela, A. M., Jumabay, M., & Boström, K. I. (2019). Beyond the bone: Bone morphogenetic protein signaling in adipose tissue. *Obesity Reviews, 20*(5), 648-658. https://doi.org/10.1111/obr.12822
2. Cockett, N. E., Smit, M. A., Bidwell, C. A., Segers, K., Hadfield, T. L., Snowder, G. D., Georges, M., & Charlier, C. (2005). The callipyge mutation and other genes that affect muscle hypertrophy in sheep. *Paper presented at the Genetics Selection Evolution*. https://doi.org/10.1186/1297-9686-37-S1-S65
3. Ermias, E., Yami, A., & Rege, J. (2002). Fat deposition in tropical sheep as adaptive attribute to periodic feed fluctuation. *Journal of Animal Breeding and Genetics, 119*(4), 235-246. https://doi.org/10.1046/j.1439-0388.2002.00344.x
4. Gao, Y., Zhang, R., Hu, X., & Li, N. (2007). Application of genomic technologies to the improvement of meat quality of farm animals. *Meat science, 77*(1), 36-45. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.026
5. Guiu‐Jurado, E., Unthan, M., Böhler, N., Kern, M., Landgraf, K., Dietrich, A., Schleinitz, D., Ruschke, K., Klöting, N., & Faßhauer, M. (2016). Bone morphogenetic protein 2 (BMP2) may contribute to partition of energy storage into visceral and subcutaneous fat depots. *Obesity, 24*(10), 2092-2100. https://doi.org/10.1002/oby.21571
6. Ibrahim, A. H. (2021). Genetic variants of the BMP2 and GDF9 genes and their associations with reproductive performance traits in Barki ewes. *Small Ruminant Research, 195*, 106302. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106302
7. Khaldari, M., & Kalfari, M. (2014). Introduction a new system for measuring volume of fat-tail in sheep. *Journal of Livestock Research, 3*(3), 71-78. https://doi.org/10.22077/JLR.2014.303
8. Khaldari, M., Kashan, N., Afzalzadeh, A., & Salehi, A. (2007). Growth and carcass characteristics of crossbred progeny from lean-tailed and fat-tailed sheep breeds. *South African Journal of Animal Science, 37*(1), 51-56. https://doi.org/10.4314/sajas.v37i1.4026
9. Koopaei, H. K., & Koshkoiyeh, A. E. (2011). Application of genomic technologies to the improvement of meat quality in farm animals. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews, 6*(6), 126-132.
10. Lu, Z., Du, L., Liu, R., Di, R., Zhang, L., Ma, Y., Li, Q., Liu, E., Chu, M., & Wei, C. (2018). MiR-378 and BMP-Smad can influence the proliferation of sheep myoblast. *Gene, 674*, 143-150. https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.06.039
11. Moioli, B., Pilla, F., & Ciani, E. (2015). Signatures of selection identify loci associated with fat tail in sheep. *Journal of Animal Science, 93*(10), 4660-4669. https://doi.org/10.2527/jas.2015-9389
12. Moradi, M. H., Nejati-Javaremi, A., Moradi-Shahrbabak, M., Dodds, K. G., & McEwan, J. C. (2012). Genomic scan of selective sweeps in thin and fat tail sheep breeds for identifying of candidate regions associated with fat deposition. *BMC Genetics, 13*(1), 1-15. https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-10
13. Nazifi, N., Rahimi-Mianji, G., & Ansari-Pirsarai, Z. (2015). Polymorphism in FSHβ and FSHRGenes and their relationship with productive and reproductive performance in Iran black, Arman and BaluchiSheep Breeds. *Iranian Journal of Applied Animal Science, 5*(2), 361-368.
14. Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., Rosales, M., & De Haan, C. (2006). Livestock's long shadow: Environmental issues and options: *Food & Agriculture Org.*
15. Wood, J., Enser, M., Fisher, A., Nute, G., Sheard, P., Richardson, R., Hughes, S., & Whittington, F. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A Review. *Meat Science, 78*(4), 343-358. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.019
16. Zhang, Z., Liu, Q., Di, R., Hu, W., Wang, X., He, X., Ma, L., & Chu, M. (2019). Single nucleotide polymorphisms in BMP2 and BMP7 and the association with litter size in Small Tail Han sheep. *Animal Reproduction Science, 204*, 183-192. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.04.001